

活性化マクロファージ細胞株〔ヒト単球性白血病細胞株(THP-1)亜株〕の樹立とその性状

著者	富永 剛
号	1075
発行年	1991
URL	http://hdl.handle.net/10097/20469

論文内容要旨

【緒言】

活性化マクロファージとは、マクロファージが種々の刺激で分化が進み、貪食殺菌能、抗原提示能、細胞障害性、モノカイン分泌能等が亢進した状態のマクロファージを指す。その機能や活性化のメカニズムの解明に、多くの研究が行われてきたが、いまだに不明な点が多い。その原因として、現在、安定した活性化細胞が存在せず、一過性の現象に対する検討しかできない点があり、活性化マクロファージの研究に、安定な活性化モデルが切望されていた。今回、我々は、ヒト単球性白血病細胞株（THP-1）より、常時活性状態を保持する亜株の樹立に成功したので、その性状について従来のTHP-1と比較し、詳細な検討を行った。

【方法】

1980年に土屋博士より供与を受けたTHP-1を約9年間継代培養したところ、付着性の突起を有する細胞が混在するようになった。その付着細胞を約3カ月間選択培養することにより、活性化亜株（A-THP-1, Activated）を樹立することができた。その亜株に対して以下の検討を加えた。1）位相差顕微鏡および電子顕微鏡で形態観察を行った。2）細胞内のアクチン、S100蛋白量を間接蛍光抗体法で半定量した。3）ヒツジ赤血球、ラテックスビーズに対する貪食能を観察した。4）NBT還元能を検討した。5）細胞表面のHLA-DR抗原量、Fc γ レセプター表現量、C3レセプター表現量を間接蛍光抗体法を行い、フローサイトメトリーで解析した。6）アロのT細胞に対するスティムレーターとしての活性をリンパ球混合培養試験で測定した。7）TNF、IL-1の分泌能をそれぞれバイオアッセイ、ELISA法で検討した。

【結果】

従来のTHP-1と比較し、以下の様な成績を得た。なお実験施行時に、マイコプラズマ感染について検討したが、陰性であった。1）A-THP-1は細胞接着性に富み、形態学的には、不整形で突起を備えていた。一部におそらく細胞融合によるものと考えられる多核の巨細胞が認められた。電子顕微鏡的には巨細胞は特に、ミトコンドリア、ライソゾーム、粗面小胞体等の細胞小器官が発達していた。2）従来のTHP-1にはほとんど検出されない細胞内アクチンが明確に認められ、S100蛋白の存在も知られた。3）ヒツジ赤血球、ラテックスビーズに対する貪食能が強かった。感作していないヒツジ赤血球に対しても貪食が認められた。抗体感作や補体処理を加えると、貪食能はさらに増強した。4）NBT還元能が亢進していた。5）細胞表面のHLA-DR

抗原量が著しく多く、リンパ球混合培養においてスティムレーターとしての活性が非常に強かった。6) 細胞表面のFc γ R表現は、従来のTHP-1同様、Fc γ R I (CD64)、Fc γ R II (CD32)は表現し、Fc γ R III (CD16)は表現していなかったが、Fc γ R Iの表現量は増えていた。

7) C3レセプターであるCR3、CR4の細胞表面表現量が著明に増強していた。8) TNFの分泌は認められなかったが、IL-1の分泌能は亢進していた。

以上の結果より、多くの点でA-THP-1が活性状態にあることが判明した。この性格は、外的刺激の添加を全く必要としなかった。

【考察および結語】

A-THP-1の様に、LPS等の外的刺激を必要とせず、常時活性状態を保持している単球/マクロファージ系の細胞株は未だ報告がみられず、活性化マクロファージの機能や活性化機序の解明などの点で非常に興味を持たれた。また、A-THP-1には次第に多核巨細胞になる細胞も認められるので、破骨細胞や肺結核時のラングハンス細胞等に代表される多核マクロファージの発生のメカニズムを知る上でも、有用なモデルとなる可能性があると期待される。

ヒト単球性白血病細胞株(THP-1)より、活性化亜株(A-THP-1)の樹立に成功したので、その性状について検討した。現在、Single cell cloningを行っている。

審 査 結 果 の 要 旨

本研究は、ヒト単球性白血病細胞株（THP-1）より、常時活性状態を保持する新亜株（A-THP-1）を分離樹立し、その性状について従来のTHP-1と比較して、詳細な検討を加えたもので、以下の成績を得ている。

1) 細胞接着性に富み、形態学的には、細胞は不整形で長い突起を備えていた。一部の細胞に、おそらく細胞融合によるものと考えられる多核巨細胞が認められた。2) 間接蛍光抗体法の結果、従来のTHP-1にはほとんど検出されない細胞内アクチンが明確に認められ、S100蛋白も存在した。3) ヒツジ赤血球、ラテックスビーズに対する貪食能が、いずれの条件においても強かった。感作していないヒツジ赤血球に対しても貪食が認められた。抗体感作や補体処理を加えると、貪食能はさらに亢進した。4) NBT還元能が亢進していた。5) 細胞表面のHLA-DR抗原量、C3レセプター、Fc γ レセプター表現量に関して、間接蛍光抗体法を行い、フローサイトメトリーで解析した結果、HLA-DR抗原量、CR3、CR4表現量が著しく多かった。Fc γ Rでは、Fc γ RIの表現量が増えていた。6) EAロゼット形成能が亢進していた。7) リンパ球混合培養において、アロのT細胞に対するstimulatorとしての活性が非常に強かった。8) モノカイン分泌能では、TNFの分泌は認められなかったが、IL-1の分泌能は亢進していた。以上の結果より、多くの点でA-THP-1が活性状態にあることが判明したとしている。この性格は、外的刺激の添加を全く必要とせず、常時保持していた。なお、マイコプラズマの感染に関しても検討しているが、感染のないことが確認されている。

活性化マクロファージの機能やその活性化のメカニズムの解明に、多くの研究が行われているが、今なお不明な点が多いのが現状である。その原因として、安定した活性化モデルが存在しない点が指摘されていた。A-THP-1は、外的刺激を必要とせず、常時活性状態を保持する単球/マクロファージ系細胞株の初めての報告例であり、活性化マクロファージの機能や活性化や多核化の機序解明などに有用であると考えられる。本論文は、その興味深い新しい樹立株の性状に関して、多岐にわたり詳細に記載したものであり、学位論文に値するものと考えられる。